云 南 植 物 研 究 5(1):115—120, 1983
Acta Botanica Yunnanica

β-昆虫蜕皮激素对菊花外植体分化的影响

黄 仕 周
(中国科学院昆明植物研究所)

摘 要

把β-蜕皮激素[1]加入基本培养基中，观察对菊花叶外植体分化芽和潜伏腋芽生长的影响，发现0.05—0.3毫克/升的β-蜕皮激素以1:10的比例分别与0.5—3.0毫克/升的6-苄基嘌呤（6-BA）配合，使能叶块组织成愈伤组织并分化出不定芽，但不分化形成根；与α-萘乙酸（NAA）配合则易形成根而不分化芽；0.5—4.0毫克/升的β-蜕皮激素与6-BA或NAA配合能促进潜伏腋芽萌发；0.25—4.0毫克/升的β-蜕皮激素能使“无根苗”生根形成完整植株。由上可见，β-昆虫蜕皮激素的作用主要和生长素类似。

近年来，β-蜕皮激素应用于植物组织培养方面的研究已有报道。例如胡忠等在水稻花粉培养时，在培养基中附加1—2毫克/升的β-蜕皮激素，观察到愈伤组织的诱导率有明显提高[2]；何静波等在培养小麦花药时，在培养基中加入0.5—10.0毫克/升的β-蜕皮激素提高了花粉胚和愈伤组织诱导率并能直接成苗[3]；在黑节草原胚体的繁殖中加入β-蜕皮激素0.1—5.0毫克/升之后，原胚体的增殖均有不同程度的提高[4]。菊花的组织培养研究，不少工作者曾做过报道[5—10]。但所用激素多为KT、2,4-D、NAA等。以β-蜕皮激素作为激素来源对菊花组织的再生成株能力及其在菊花快速繁殖中的应用还未见到资料，为此，我们自1981年以来进行了这方面的试验，现将主要结果报道如下。

材 料 和 方 法

以雪涛菊 *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.的叶片、潜伏腋芽等组织为试验的主要材料，部分试验用绿牡丹菊。供试组织先用70%酒精浸1分钟后水洗，再用0.1%的昇汞液或10%的安替福民液消毒8—10分钟，再以无菌水漂洗数次，然后将叶片切成约1.5×1.5cm的切块；潜伏腋芽是具潜伏芽的茎段，切成0.5cm长。接种于无肌醇的MS培养基上，根据试验要求附加不同浓度的β-蜕皮激素、6-BA、NAA等激素（详见后面各表），蔗糖3%，琼脂0.8%，pH=6.0，培养温度为25--28°C，光辐照强度为4—5瓦/米^2。待芽伸长或苗高2—5cm时，从基部剪下移入MS+0.25—4.0毫克/升的β-蜕皮激素或NAA中诱导生根，生根后移入盆中或苗圃地内。试验中观察并统计了愈伤组织、出芽、生根以及繁殖周期和无性系后代的变异等情况。

本文于1982年11月收到。

结 果 和 讨 论

β-蜕皮激素和6-BA对叶片切块分化芽和根的影响 表1是其主要结果。从中可以看到0.5—3.0毫克/升的β-蜕皮激素以10：1的比例与0.05—0.3毫克/升NAA配合使用，在试验的浓度范围内，不论两者用量的高低，叶片切块上只能保持绿色并诱导出较多的绿色突起，却不能分化成芽，只能形成大量的不定根。β-蜕皮激素同6-BA 配合以及6-BA 同NAA 配合都能在叶块上形成很多绿色凸起并分化出芽来，以0.2毫克/升的β-蜕皮激素同2毫克/升的6-BA 配合或0.5毫克/升的6-BA同0.05毫克/升的NAA配合时，芽的分化率相对较高，前者可达30%，后者可达24.9%，然而却无根的形成。

表1 β-蜕皮激素对雪涛菊叶片切块培养的影响 （培养后60天的统计资料）

试验日期	MS培养基附加（毫克/升）β-蜕皮激素	6-BA	NAA	接种叶块数	出芽叶块数	出芽率(%)	生根率(%)或多少*
1981年1—3月		0.25	0.025	32	1	3.1	0
		0.50	0.01	16	2	12.5	0
		0.50	0.05	52	13	24.9	0
		1.00	0.10	17	3	12.9	0
		2.00	0.20	37	2	5.4	0
	0.50		0.05	12	0	0	++
	2.00		0.40	8	0	0	+++
1982年3—5月	0.05	0.50		25	4	16	0
	0.10	1.00		10	1	10	0
	0.20	2.00		30	9	30	0
	0.30	3.00		10	2	20	0
	0.50		0.05	10	0	0	50
	1.00		0.10	20	0	0	25
	2.00		0.20	15	0	0	40
	3.00		0.30	15	0	0	33

* +++示生根很多、++示生根较多。

β-蜕皮激素对潜伏腋芽生长的影响 主要结果列在表2中。从中可看到以下情况：

1.在无任何激素的MS基本培养基上，所有茎段上的潜伏芽都能萌发，但生长极慢，两个月后潜伏腋芽仅伸长0.2cm，形成根的茎段只有14.3%（表2-G）。

2.β-蜕皮激素（0.25毫克/升）、NAA（0.25毫克/升）、6-BA（2.0毫克/升）单独使用时，β-蜕皮激素比同浓度的NAA促进潜伏芽萌发的能力要强，但茎的生长速度较

慢，生根能力也较低， 6-BA 促进潜伏芽萌发能力与β-蜕皮激素较接近，但不生根(表2－F）。

3.当6-BA：NAA＝10：1时，在绝对量相对低的培养基上，潜伏腋芽萌发百分率要低些，但茎的生长速度要高得多；生根力普遍很低，似乎与激素用量无关（表2-A)。如果6-BA：NAA＝1：10时，明显地抑制了芽的萌发和根的形成，并且使用浓度越高，抑制作用越大。0.2—0.4毫克/升的6-BA与2—4毫克/升的NAA配合时，在培养前期还可见到一些腋芽绿点，到后期腋芽全被旺盛生长的愈伤组织所包裹，无法萌发出来（表2-B）。

表2　β-蜕皮激素、6-BA、NAA对潜伏腋芽萌发和生根的影响

（接种后60天统计资料）

类别	MS培养基附加（毫克/升） β-蜕皮激素	6-BA	NAA	接种潜伏腋芽茎段数	萌发腋芽茎段数	生根腋芽茎段数	芽萌发率(%)	生根率(%)	平均芽或苗长(cm)
A		0.50	0.05	23	14	1	60.9	4.3	4
		2.00	0.20	22	14	1	63.6	4.5	2.8
		4.00	0.40	21	15	1	71.4	4.8	2
B		0.05	0.50	28	13	13	46.2	46.4	4
		0.20	2.00	28	4	9	32.1	32.1	0.2
		0.40	4.00	18	0	1	0	5.6	0
C	0.05	0.50		22	20	1	90.9	4.5	4
	0.20	2.00		22	20	1	90.9	0	4
	0.40	4.00		21	18	1	85.7	0	2.5
D	0.50	0.05		48	44	17	91.7	35.4	4.2
	2.00	0.2		50	46	11	92.0	22.0	3.9
	4.00	0.4		46	41	11	89.1	23.9	4.2
E	0.50		0.05	21	18	20	85.7	95.2	3
	2.00		0.20	24	19	24	79.2	100	4.2
	4.00		0.40	23	16	21	69.6	91.3	4
F	0.25		0.25	28	18	28	64.3	100	3.6
	0.125		0.125	27	24	27	88.9	100	4
			0.25	28	18	28	64.3	100	3.5
	0.25			28	25	19	89.3	67.9	1.9
		2.00		17	14	0	82.4	0	3.5
G	0	0	0	7	7	1	100	14.3	0.2

4.当β-蜕皮激素：6-BA＝10：1或1：10时，潜伏芽的萌发能力都强，芽的成茎

率可达85.7—92.0%，且绝对用量之间差异不大。β-蜕皮激素用量小于6-BA用量时基本不生根，反之有1/4左右的潜伏芽茎段生根。从茎的生长速度看，除0.4毫克/升的β-蜕皮激素与4毫克/升的6-BA配合下的茎节的生长速度相对较小以外（这个结果与0.4毫克/升的NAA同4毫克/升的6-BA配合的效应颇为相似），其它处理芽的生长都较快，正反比例之间，浓度相对高低之间差别不大（表2-C、D）。

5. β-蜕皮激素：NAA＝10：1时，多数潜伏腋芽能萌发伸长，90%以上的潜伏芽茎段能生根，苗生长亦较正常（表2-E）。

总之，β-蜕皮激素同6-BA配合，不论β-蜕皮激素的用量是大于还是小于6-BA的用量都有利于潜伏腋芽的萌发伸长，但不利于根的形成；它与NAA配合则有利于根的出现，而且只有当它们互相配合时茎的生长速度才会加快。

从上述结果看来，β-蜕皮激素在植物组织培养中的作用，似乎兼有生长素和激动素的性质，但生长素的作用表现较明显而激动素的作用表现较小。这只是初步结果，究竟作用的性质如何，还有待研究。

β-蜕皮激素对诱导根的影响　诱导“无根苗”生根使成完整幼苗的结果列于表3。从中看到β-蜕皮激素或NAA诱导生根的浓度范围都比较宽，从0.25—4毫克/升都能诱导出根来，低浓度（0.25毫克/升）的NAA效果最快，根系发育也较好，一般在处理后3—4天便可见到一些芽节基部出根，10—15天可全部生根，20天左右平均苗高

表3　不同浓度的β-蜕皮激素、NAA对“无根苗”诱导生根的能力

供试品种	激素种类	激素浓度（毫克/升）	供试伸长芽数（个）	生根伸长芽数（个）	生根率（%）	根系情况
雪涛菊	β-蜕皮激素	0.25	24	24	100	根多、细长、根毛较少。
		0.50	34	34	100	
		1.00	34	34	100	
		2.00	34	34	100	
		3.00	12	12	100	
		4.00	34	34	100	
绿牡丹		0.50	12	9	75	比雪涛菊的根系少些。
		1.00	10	10	100	
		2.00	11	10	91	
		3.00	10	9	90	
雪涛菊	NAA	0.25	119	119	100	根系粗短壮实，白色根毛多。
		0.50	32	32	100	
		1.00	14	14	100	
		2.00	10	10	100	
		3.00	10	10	100	

3—5 cm，具6—8条根，即可移栽入盆，若提高NAA浓度则延迟了根系的发生和生长。β-蜕皮激素诱导生根在不同浓度之间未见明显差异，但与NAA相比较则有很大区别，β-蜕皮激素与NAA相比开始生根的时间要晚2—4天，但出根整齐，根的伸长生长要快得多，白色根毛少，苗较细长瘦小；NAA诱导的根，一般粗短，白色根毛多，小苗也较粗短苗壮。但上述两类的小苗移栽都能成活。

用β-蜕皮激素进行菊花的快速繁殖及其无性系后代的遗传稳定性　应用β-蜕皮激素与6-BA配合或6-BA与NAA配合，可以使菊花叶片等组织分化芽，芽伸长成茎后取其潜伏腋芽茎段在前述的培养基中反复培养，以增加繁殖系数。据我们多次试验的结果计算，来自一块组织（如叶片、花蕾、芽尖）的芽或苗，经过多次培养在一年内至少可获得几万株苗。其计算公式可按5^n或6^n计算，n为培养次数，一般情况下每1—2个月为一培养周期。这样大的繁殖数量远非分根或扦插所能比拟的，因此它是菊花快速繁殖的一个较好途径。这个结果与E、D、Earle等人用菊花茎尖培养的报道相类似[6、7]。然而要指出，如此大量的无性系后代从植物本身的繁殖能力讲无疑是可能的，但在实际运用上将会遇到工作量的问题。在一般情况下用此方法每年培养万株小苗是较现实的。

试验中，对来自一块叶片切块培养的140株无性系后代和48株来自花蕾的无性系后代，从株型、叶形、花色等方面进行了观察，没有发现植株间有明显变异发生，此点与E、D、Earle等人的报道不一致。他们在“Giant 4# indianapolis white”茎尖培养的857个已开花的植株中，产生2个黄花植株，约有不到0.2%的变异率[7]；R、N、Stewant等发现白花中产生了开粉红色花的植株，并解释为4号白花是一个产生粉红花潜在的内部组织的嵌合体[8]。至于在我们的试验中没有发现明显的变异株，这可能是由于我们所用的试验品种的种性比较稳定；或是由于本身的变异小而我们观察的数量又不大，变异尚未表现出来，为此，尚需通过考察大量的个体才能加以证实。

参　考　文　献

〔1〕聂瑞麟等，1978：露水草植物中蜕皮激素的分离和鉴定。化学学报 36(2)：137—141。

〔2〕胡忠等，1977：昆虫蜕皮激素对水稻和小麦花粉植株诱导的影响。花药培养学术讨论会文集，270页。

〔3〕何静波等，1980：β-昆虫蜕皮激素对小麦花粉苗形成的影响。植物生理学报，6(4)：369—375。

〔4〕何静波等，1982：黑节草原胚体的繁殖。云南植物研究，4(2)：211—212。

〔5〕Hill, G. P. 1968: Shoot Formation in Tissue Culture of Chrysanthemum 'Bronze Bride'. *Physiologia Plantarum* 21: 386—389.

〔6〕Earle E. D., and R. W. Langhans, 1974a: Propagation of Chrysanthemum in Vitro. I Multiple Plantlets from Shoot Tips and the Establishment of Tissue Cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99(2). 128—132.

〔7〕——1974b: II, Production, Growth, and Flowering of Plantlets from Tissue Cultures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99(4). 352—358.

〔8〕Stewart, R. N., and H. Dermen, 1970: Somatic genetic Analysis of the apical Layers of Chimeral Sports in Chrysanthemum by experimental production of adventions Shoots. *Amer. J. Bot.* 57: 1061—1071.

〔9〕杨乃博等，1979：用组织培养方法繁殖十种植物的试验。植物生理学报 5(4)：369—377.

〔10〕顾梅仙等，1979：菊花组织培养的初步研究。上海农业科技 7：26.

EFFECT OF β-ECDYSONE ON THE DIFFERENTIATION OF DENDRANTHEMA MORIFOLIUM EXPLANT

Huang Shizhou
(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract

The calluses and adventitious buds can be induced from the leaf explant of *Dendranthema morifolium* (Ramat.)Tzvel. by adding 0.05—0.3 mg/l β-ecdysone together with 0.5—3.0 mg/l BA(1 : 10) to the medium, but roots can not be induced. The formation of roots can be gained by putting β-ecdysone plus NAA in the medium, but buds can not be achieved. The growth of dormant axillary buds can be promoted with 0.5—4.0 mg/l β-ecdysone plus BA or NAA and the roots can be induced from the basal portions of the buds(or shoot) with 0.25—4.0 mg/l β-ecdysone in the medium. So, the effect of β-ecdysone is mainly similar to that of auxins.